

Buňky RKO-E6 | 305135

Obecné informace

Description Buňky RKO-E6 jsou buněčnou linií lidského kolorektálního karcinomu odvozenou z buněčné linie RKO další mutagenézí. Tyto buňky se běžně používají ve výzkumu rakoviny, zejména se zaměřením na kolorektální karcinom. Varianta E6 linie RKO nabízí odlišný profil, který je užitečný pro zkoumání účinků specifických genetických manipulací a studium molekulárních mechanismů tumorigeneze a metastazování u kolorektálního karcinomu. Buňky RKO-E6 se vyznačují několika jedinečnými vlastnostmi, včetně změn v genech souvisejících s regulací buněčného cyklu, apoptózou a cestami opravy DNA. Tyto modifikace zvyšují užitečnost buněčné linie pro zkoumání biologických účinků umlčení nebo nadměrné exprese genů v kontextu kolorektálního karcinomu. Buňky RKO-E6 byly například použity ke studiu vlivu tumor supresorových genů a onkogenů na chování nádorových buněk, včetně proliferace, invaze a rezistence vůči chemoterapeutickým látkám. Buňky RKO-E6 jsou dále užitečné ve studiích zaměřených na pochopení buněčných reakcí na stresory prostředí, jako je oxidační stres a látky poškozující DNA, které jsou relevantní pro patogenezi a progresi kolorektálního karcinomu. Jejich robustní růstové vlastnosti a genetická stabilita z nich činí cenný model pro vysoce výkonné screeningové testy k hodnocení účinnosti nových protinádorových sloučenin. Souhrnně lze říci, že buňky RKO-E6 představují zásadní model pro prohloubení našich znalostí biologie kolorektálního karcinomu a pro vývoj a testování nových terapeutických strategií zaměřených na toto rozšířené a často smrtelné onemocnění.

Organism Člověk

Tissue Střeva

Disease Karcinom tlustého střeva

Synonyms RKOE6

Charakteristika

Morphology Epitelové

Growth properties Adherentní

Regulační údaje

Citation RKO-E6 (katalogové číslo Cytion 305135)

Biosafety level 2

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_3787

Buňky RKO-E6 | 305135

GMO Status

GMO-S1: Tato linie lidských buněk kolorektálního karcinomu (RKO-E6) obsahuje plazmid kódující HPV-16 E6 pod kontrolou promotoru CMV, případně včetně sekvencí CMV a HPV-6, což umožňuje studie transformace závislé na E6. Konstrukt je stabilně integrován. Tato klasifikace platí pouze v Německu a jinde se může lišit.

Biomolekulární data**Zpracování****Culture Medium**

EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamin, w: 2,2 g/l NaHCO₃, w: EBSS (číslo článku Cytion 820100a)

Supplements

Doplňte médium o 10 % FBS a 1 % NEAA

Dissociation Reagent

Accutase

Subculturing

Odstraňte staré médium z adherovaných buněk a promyjte je PBS bez vápníku a hořčíku. Pro baňky T25 použijte 3-5 ml PBS a pro baňky T75 5-10 ml. Poté buňky zcela zakryjte přípravkem Accutase, přičemž použijte 1-2 ml pro baňky T25 a 2,5 ml pro baňky T75. Nechte buňky inkubovat při pokojové teplotě po dobu 8-10 minut, aby se oddělily. Po inkubaci jemně promíchejte buňky s 10 ml média, aby byly znovu suspendovány, a poté je odstředte při 300xg po dobu 3 minut. Supernatant vyhoďte, buňky znovu rozpustte v čerstvém médiu a přeneste je do nových baněk, které již obsahují čerstvé médium.

Split ratio

1:2 až 1:4

Fluid renewal

2 až 3krát týdně

Freeze medium

Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryo.

Buňky RKO-E6 | 305135

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmražená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstředíte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujete.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

**Incubation
Atmosphere**37 °C, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.**Flask Coating**

Žádný

**Freezing
Procedure**

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

**Shipping
Conditions**

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Buňky RKO-E6 | 305135

Storage Conditions

Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality a molekulární analýza

Sterility

Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy.

Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuální kontrolám.